



Otimização de parâmetros de processo para a produção de um novo biopolímero em reator de tanque agitado

RESUMO

Michel da Silva Fonseca
mfonseca@alunos.utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, Paraná, Brasil

Mário Antônio Alves da Cunha
mcunha@utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, Paraná, Brasil

Vidiany Aparecida Queiroz Santos
vidianyqueiroz@yahoo.com.br
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, Paraná, Brasil

Robert F.H Dekker
xylanase@me.com
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, Paraná, Brasil

OBJETIVO: Considerando a relevância tecnológica da identificação de novos biopolímeros, o presente estudo teve por objetivo avaliar a produção de um novo exopolissacarídeo (EPS). **MÉTODOS:** Metodologia de planejamento fatorial, por meio de um delineamento composto central rotacional (2^3) foi empregado para avaliar a influência das variáveis agitação, concentração de sacarose e concentração de peptona sobre a produção do EPS e biomassa micelial. **RESULTADOS:** As concentrações de sacarose e de peptona do meio de cultivo não influenciaram significativamente, nem a produção do exopolissacarídeo e nem o crescimento micelial nas faixas de concentrações avaliadas, em um intervalo de confiança de 95%. Por outro lado, a velocidade de agitação demonstrou influenciar ($p < 0,05$) o crescimento micelial com efeito linear e quadrático significativo. Similarmente, a agitação também demonstrou ter efeito significativo em relação a produção do exopolissacarídeo, com efeito linear significativo em um intervalo de 90% de confiança. Máxima produção de EPS (1,9 g/L) foi obtida quando empregada concentrações de 27,5 g/L de sacarose, 1,5 g/L de peptona e agitação de 25 rpm. **CONCLUSÕES:** Parece haver uma correlação entre crescimento celular e produção de EPS pelo fungo estudado, sugerindo que a produção do EPS está associada a atividade respiratória.

PALAVRAS-CHAVE: Bioatividade. EPS fúngico. Exopolissacarídeo.

INTRODUÇÃO

Exopolissacarídeos (EPS) são macromoléculas extracelulares produzidas em cultivo submerso por algumas bactérias, leveduras e fungos filamentosos, a partir de meio de cultivo contendo fontes de carbono como glicose, frutose e sacarose (MAHAPATRA & BENERJEE, 2013).

A produção microbiana de exopolissacarídeo tem despertado o interesse de pesquisadores, devido à simplicidade do processo produtivo e pelas propriedades bioativas como potencial antioxidante e antimicrobiano, atividades imunomoduladora e anticarcinogênica (KAGIMURA et al., 2015). Devido a tais potencialidades biológicas, os EPS apresentam ampla aplicação comercial e dependendo do microrganismo produtor e das condições de produção, tais como fontes de carbono e nitrogênio, pH de cultivo e aeração, apresentam particularidades em relação a estrutura e propriedades químicas e físicas, o que influencia diretamente na sua bioatividade e propriedades tecnológicas (DONOT, et al., 2012; BARBOSA, et al., 2004).

Diante das inúmeras aplicações biotecnológicas dos exopolissacarídeos, o presente estudo teve como objetivo a otimização dos parâmetros de processo para a produção de um novo EPS produzido por fungo filamentoso isolado de casca de palmeira.

METODOLOGIA

1 CEPA FÚNGICA E PREPARO DO INÓCULO

O fungo filamentoso isolado de casca de palmeira foi mantido em meio ágar *Sabouraud* com cloranfenicol sob refrigeração a 5 °C. Repiques do micélio fúngico foram realizados periodicamente para a preservação da cultura. Para o preparo do inóculo, o micélio fúngico foi transferido asepticamente para placas de Petri contendo meio ágar *Sabouraud* com cloranfenicol, nas quais foram incubadas por 72 h em estufa bacteriológica a 28 °C. Em seguida, o micélio fúngico foi transferido para frascos *Erlenmeyer* contendo 100 mL de meio contendo 0,5 g/L de KH_2PO_4 , 0,5 g/L de MgSO_4 , 0,5 g/L de peptona e 5 g/L de sacarose e então os frascos foram incubados a 28 °C sob agitação (150 rpm) por 48 h. Esta pré-cultura foi centrifugada de modo a recuperar o micélio fúngico, o qual foi ressuspensionado em água destilada e triturado em mixer de modo a obter uma suspensão celular com absorvância entre 0,4 e 0,5 a 400 nm. O inóculo padronizado foi utilizado para a produção do EPS, em meio contendo sacarose e peptona como fontes de carbono e nitrogênio, respectivamente.

2 AVALIAÇÃO DO EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DA FONTE DE CARBONO, NITROGÊNIO E AGITAÇÃO NA PRODUÇÃO DE EPS

Delineamento composto central rotacional (2^3) foi empregado na avaliação da influência das variáveis concentração da fonte de carbono, concentração da fonte de nitrogênio e agitação na produção de EPS e biomassa micelial (Tabela 1).

Tabela 1 – Delineamento composto central rotacional (2^3)

| Variáveis | Níveis de Variação | | | | |
|-----------|--------------------|-----|------|-----|-------|
| | -1,68 | -1 | 0 | +1 | +1,68 |
| Sacarose | 5 | 14 | 27,5 | 4,1 | 50 |
| Peptona | 0,5 | 0,9 | 1,5 | 2,1 | 2,5 |
| Agitação | 25 | 71 | 138 | 205 | 250 |

Os cultivos foram realizados em frascos *Erlenmeyer* de 250 mL, contendo 150 mL de meio constituído por sacarose, peptona bacteriológica, 2 g/L de KH_2PO_4 , 2 g/L de MgSO_4 e 5 mL de inóculo padronizado. As concentrações de sacarose e peptona seguiram o planejamento experimental (Tabela 1). Os frascos foram incubados em agitador orbital (*shaker*) com valores de agitação seguindo o planejamento experimental. No final do bioprocessamento, o caldo de cultivo foi separado da biomassa celular por centrifugação (1500 x g, 20 min.) e então o EPS produzido foi precipitado com 3 volumes de etanol absoluto a 4 °C, *overnight*, e submetido a secagem em estufa com circulação de ar à 60 °C até massa constante.

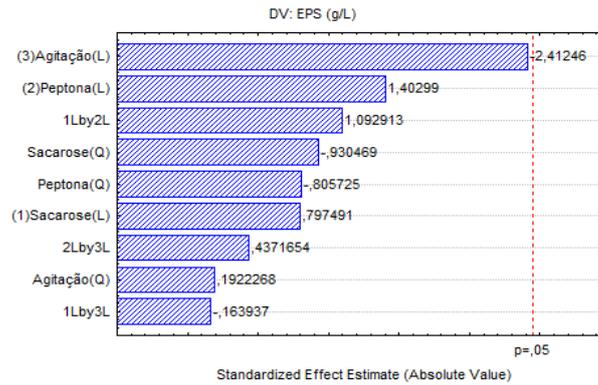
RESULTADOS E DISCUSSÃO

O fungo estudado produziu exopolissacarídeo em todas as condições experimentais estudadas no delineamento experimental.

No ensaio 9, onde foram empregadas concentrações de 5 g/L de sacarose e 1,5 g/L de peptona associadas a uma agitação de 138 rpm foram produzidas 0,16 g/L de EPS e 10,48 g/L de biomassa micelial. Já no ensaio 13, onde foram empregadas concentrações de 27,5 g/L de sacarose e 1,5 g/L de peptona associada a uma baixa condição de agitação (25 rpm), foram produzidos 1,9 g/L de EPS e 0,88 g/L de biomassa micelial.

Com relação a biossíntese do EPS, nenhuma das variáveis avaliadas demonstrou influência estatisticamente significativa considerando um intervalo de confiança de 95% ($p < 0,05$). Isto pode ser claramente verificado através do gráfico de Pareto ilustrado na Figura 1. Entretanto, através de gráficos de contorno (gráficos não mostrados) pode ser verificada tendência de maior produção de EPS quando são empregadas concentrações de peptona próximas a 1,5 g/L, associada a concentrações de sacarose próximas a 27,5 g/L. Da mesma forma, com relação a agitação pode-se considerar haver uma tendência de maior produção de EPS em condições de processo com menores valores de agitação.

Figura 1 - Gráfico de pareto para produção de EPS



Similarmente ao verificado com a produção de EPS, os conteúdos de biomassa fúngica produzidos nos ensaios fermentativos também variaram bastante em função das condições experimentais empregadas. No ensaio 1, onde foi utilizada 14 g/L de sacarose, 0,9 g/L de peptona e uma agitação de 71 rpm foi produzido um conteúdo de 0,62 g/L. Por outro lado, no ensaio 10, onde foram empregadas concentrações de 50 g/L e 1,5 g/L, respectivamente de sacarose e peptona, associado a uma agitação de 138 rpm foi produzido um conteúdo 31 vezes superior (19,6 g/L). Conforme demonstrado no gráfico de pareto (Figura 2), apenas a agitação demonstrou efeito estatisticamente significativo ($p > 0,05$) sobre o crescimento micelial. Através dos gráficos de contorno de respostas (Figura 3), pode ser verificado que o crescimento micelial é favorecido em condições de agitação entre 138 rpm (ponto central do planejamento) e 205 rpm (nível +1). Ou seja, maiores valores de agitação contribuem para maior crescimento do fungo. Tal comportamento possivelmente está associado ao estímulo da atividade respiratória em função de uma maior disponibilidade de oxigênio promovida pela agitação do meio.

Figura 2 - Gráfico de pareto para crescimento micelial

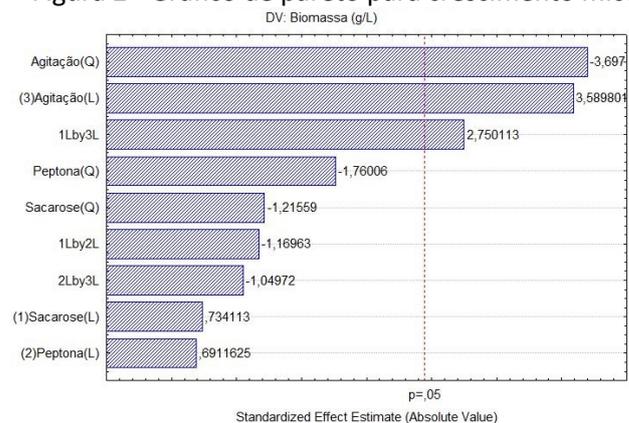
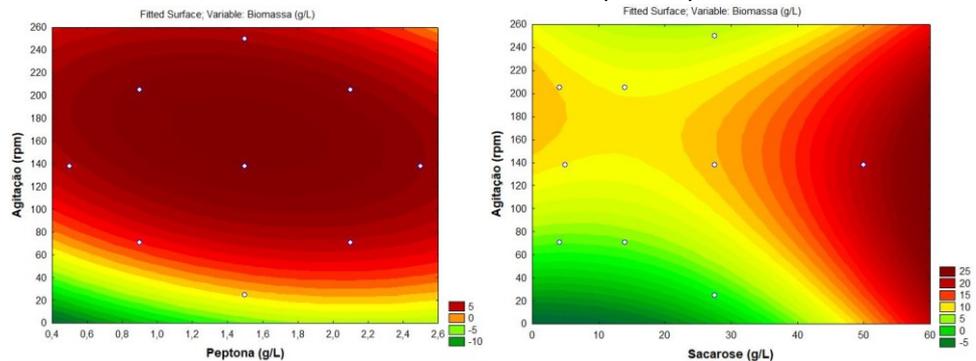


Figura 3 - Gráfico de contorno referente a influência da agitação e concentração de peptona (esquerda) e agitação e concentração de sacarose sobre crescimento micelial (direita)



CONCLUSÕES

A cepa fúngica estudada demonstrou potencial quanto a produção de EPS em meio a base de sacarose e peptona. A concentração de sacarose do meio não demonstrou ter efeito significativo sobre a produção do EPS e sobre o crescimento micelial na faixa de concentração avaliada. Similarmente, a concentração de peptona também não apresentou efeito significativo ao nível de 95% de confiança, tanto em relação a produção do EPS como em relação ao crescimento micelial. Por outro lado, a variável agitação demonstrou ter influência sobre crescimento micelial, com efeito linear e quadrático significativo. Em relação a produção do EPS, a agitação teve efeito linear significativo ao nível de 90% de confiança. Os resultados obtidos sugerem que possivelmente há uma correlação entre a produção do exopolissacarídeo e atividade respiratória, entretanto tal correlação precisa ser melhor estudada.

Optimization of process parameters for the production of a new biopolymer in the reactor tank agitated

ABSTRACT

OBJECTIVE: Considering the technological relevance of the identification of new biopolymers, the present study aimed to evaluate the production of a new EPS. **METHOD:** A central rotational compound design (DCCR 2³) was employed to assess the influence of the variables agitation and sucrose and peptone concentration on the production of EPS and biomass mycelial. **RESULTS:** The concentrations of sucrose and peptone in the culture medium did not influence significantly neither the production of exopolissacarídeo and not the growth of mycelial in the ranges of concentrations evaluated at a confidence interval of 95%. On the other hand, the agitation speed showed influence ($p < 0.05$) on the growth mycelial with the effect of linear and quadratic significant. Similarly, the agitation also have been shown to influence the exopolysaccharide production with a significant linear effect at a confidence interval of 90%. The maximum production of EPS (1.9 g/L) was obtained when employed concentrations of 27.5 g/L sucrose, 1.5 g/L peptone and agitation of 25 rpm. **CONCLUSION:** There seems to be a correlation between cell growth and EPS production by the fungus studied, suggesting that the EPS production is associated with respiratory activity. However, such correlation needs to be better studied.

KEYWORDS: Bioactivity. Exopolysaccharide. Fungal EPS.

REFERÊNCIAS

BARBOSA, A.M.; CUNHA, P.D.T.; Pigatto, M.M.; SILVA, M.L.C. Produção e Aplicações de Exopolissacarídeos Fúngicos. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas**, v. 25, n. 1, p. 29-42, 2004.

DONOT, F.; FONTANA, A.; BACCOU, J.C.; SCHORR-GALINDO, S. Microbial exopolysaccharides: Main examples of synthesis, excretion, genetics and extraction. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, n. 2, p. 951–962, 2012.

KAGIMURA, F.Y; CUNHA, M.A.A.; BARBOSA A.M.; DEKKER, R.F.H.; MALFATTI, C.R.M. Biological activities of derivatized D-glucans: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.72, p. 588-598, 2015.

MAHAPATRA, M.; BANERJEE, D. Fungal Exopolysaccharide: Production, Composition and Applications. **Microbiology Insights**, v. 6, p. 1–16, 2013.

Recebido: 31 ago. 2017.

Aprovado: 02 out. 2017.

Como citar:

FONSECA, M. S. et al. Otimização de parâmetros de processo para a produção de um novo biopolímero em reator de tanque agitado. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA DA UTFPR, 22., 2017, Londrina. **Anais eletrônicos...** Londrina: UTFPR, 2017. Disponível em: <<https://eventos.utfpr.edu.br/sicite/sicite2017/index>. Acesso em: XXX.

Correspondência:

Michel da Silva Fonseca

Via do conhecimento, Km 1 , Pato Branco, Paraná, Brasil.

Direito autoral:

Este resumo expandido está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição-Não Comercial 4.0 Internacional.

